

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman herbal masih merupakan pilihan utama yang digunakan dalam pengobatan di beberapa belahan dunia (Al-Rubiay *et al.*, 2008). Meskipun pemulihannya lambat, namun tanaman herbal memiliki efek samping yang lebih rendah (Sharma *et al.*, 2011). Penyakit yang sering diobati dengan tanaman herbal salah satunya adalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Borade *et al.*, 2011). Dua bakteri yang dapat menyebabkan penyakit antara lain *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*.

Bacillus subtilis adalah bakteri yang dapat mengkontaminasi makanan sehingga dapat menyebabkan keracunan makanan (Constantin *et al.*, 2009). Bakteri ini menghasilkan toksin ekstraseluler subtilisin yang dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas jika terpapar berkali-kali (Sundaram *et al.*, 2011). *Shigella sonnei* merupakan bakteri Gram negatif penyebab utama penyakit diare dan *Shigellosis* (Ranjbar *et al.*, 2008). Alcoba-Florez *et al.* (2005) mengungkapkan bahwa 69% dari semua infeksi dan 61% kematian yang terkait *Shigella sp.* terjadi pada anak usia < 5 tahun. Sehingga akan bermanfaat jika dikembangkan obat baru yang lebih efektif dalam mengobati infeksi bakteri.

Pengembangan obat antibakteri alternatif yang efektif dan aman dapat digali dari tanaman. Banyak tanaman yang berpotensi untuk pengobatan infeksi (Akter *et al.*, 2010). Metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman telah diakui memiliki banyak aktivitas farmakologi (Rahmoun *et al.*, 2013), misalnya tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.).

Pacar kuku termasuk dalam keluarga *Lythraceae* yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis kering. Daun keringnya disebut henna dan digunakan sebagai bahan pewarna kuku, rambut, dan kulit (Merdaw, 2009). Secara tradisional, daun pacar kuku digunakan sebagai obat diare, disentri, dan penyakit terkait lainnya yang disebabkan oleh *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus*

vulgaris, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Shigella dysenteriae* (Kawo & Kwa, 2011). Ekstrak metanol, ekstrak air, dan ekstrak kloroform daun pacar kuku dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Saadabi, 2007). Ekstrak air dan ekstrak alkohol daun pacar kuku terbukti memiliki aktivitas antibakteri dengan KHM (kadar hambat minimum) sebesar 8–64 mg/mL terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Al-Kurashy *et al.*, 2011).

Menurut Evant (2009) daun pacar kuku mengandung lawson (2-hidroksi, 1,4 naftokuinon), berbagai glikosida fenolik, kumarin, santon, kuinin, glikosida β -sitosteron, flavonoid seperti luteolin 7-O-glukosa, lemak, resin, dan henna-tanin. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dilakukan pengujian ekstrak etanol daun pacar kuku terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*, serta uji bioautografi untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang bertanggung jawab sebagai antibakteri.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol daun pacar kuku mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*?
2. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pacar kuku yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan perumusan tersebut, tujuan penelitian ini sebagai berikut :

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pacar kuku terhadap *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*.

2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pacar kuku yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.)



Gambar 1. Tanaman Pacar kuku

a. Sistematika dan Klasifikasi

Klasifikasi tanaman pacar kuku adalah sebagai berikut :

- Divisio : Spermatophyta
- Sub Divisio : Angiospermae
- Classis : Dicotyledoneae
- Sub Classis : Dialypetalae
- Ordo : Myrtales
- Familia : Lythraceae
- Genus : Lawsonia
- Species : *Lawsonia inermis* L. (Becker *et al*, 1969; Gembong, 1988)

b. Kandungan kimia

Pacar kuku mengandung pewarna utama lawson (2-hidroksi, 1,4 naftokuinon) dalam daun kering dengan konsentrasi 1,0–1,4% (Jiny *et al.*, 2010), mengandung flavonoid, kumarin, dan steroid (Rajwar & Khatri, 2011). Selain itu unsur lain yang terkandung adalah asam galat, glukosa, manitol, lemak, resin

(2%), dan lendir (Chaudhary *et al.*, 2010). Menurut Boubaya *et al.* (2011) daun pacar kuku mengandung Ca, Na, K, dan P sebanyak 0,2– 4 %, Mg kurang dari 0,2 %, Cu 0,5 %, Zn 1,1 %, Fe 15 %, sedangkan Mn kurang dari 1,5 %.

c. Khasiat

Selain digunakan sebagai pewarna alami, secara farmakologi daun pacar kuku digunakan untuk pengobatan hiperglikemik (Syamsudin *et al.*, 2008), memiliki aktivitas antimikroba (Das & Mondal, 2012), efek penyembuhan luka, sitotoksik, antioksidan, dan antivirus (Brahmeshwari *et al.*, 2012). Secara tradisional bagian daun, bunga, dan biji berkhasiat sebagai antipiretik, penyembuhan luka bakar, sembelit, obat diare, dan disentri (Jain *et al.*, 2010).

Penelitian yang telah banyak dilakukan membuktikan bahwa ekstrak daun pacar kuku memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri Gram negatif maupun Gram positif. Penelitian yang dilakukan Sarojini *et al.* (2012) membuktikan bahwa ekstrak aseton daun pacar kuku memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (Gram negatif) dan *Bacillus subtilis* (Gram positif) pada konsentrasi 300 mg/mL dengan 50 µL/disk, didapatkan diameter zona hambat 19–22 mm. Peneliti lain, Mastanaiah *et al* (2011) menunjukkan bahwa ekstrak heksan daun pacar kuku dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Streptococcus salivarius* dengan kadar hambat minimum (KHM) 6,25 mg/mL.

2. *Bacillus subtilis*

a. Sistematika dan klasifikasi

Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Bacillaceae
Genus	: Bacillus
Species	: <i>Bacillus subtilis</i> (NCBI, 2013).

Bacillus subtilis didistribusikan secara luas di lingkungan, khususnya di tanah, udara, dan sisa tanaman busuk. *Bacillus subtilis* termasuk gram positif, berbentuk batang yang memiliki flagel peritrikus untuk bergerak dan mempunyai kemampuan menghasilkan enzim seperti amilase, protease, dan lipase. Spora yang dihasilkan dapat bertahan pada lingkungan ekstrim seperti suhu tinggi, alkohol, pengeringan, dan lain sebagainya. Pertumbuhan biasanya terjadi pada kondisi aerob, namun dalam media kompleks yang mengandung nitrat bakteri ini dapat tumbuh pada kondisi anaerob (Hatmanti, 2000).

Karakteristik patogen dan virulensi pada *Bacillus subtilis* lebih rendah daripada *Bacillus* spp. lainnya. Namun pada kelompok yang memiliki sistem imun rendah dapat menyebabkan iritasi sinus dan mata, sakit tenggorokan, endokarditis, pneumonia, bakteremia, dan septikemia (Samiullah & Bano, 2011). Selain itu, *Bacillus subtilis* sering mengkontaminasi makanan sehingga menyebabkan keracunan makanan dengan gejala diare dan muntah (Sundaram, 2011). *Bacillus subtilis* menghasilkan toksin ekstraseluler yaitu subtilisin. Senyawa protein ini mampu menyebabkan reaksi alergi dan hipersensitivitas pada individu yang berulang kali terkena. Antibiotik tetrasiklin dan kloramfenikol dapat digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Bacillus subtilis*. Selain itu dapat juga menggunakan vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, dan klindamisin dengan lama pemberian antara 7-14 hari (Yassin & Ahmad, 2012).

3. *Shigella sonnei*

a. Sistematika dan klasifikasi

Klasifikasi *Shigella sonnei* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Shigella
Species	: <i>Shigella sonnei</i> (NCBI, 2013).

Shigella sonnei merupakan bakteri Gram negatif, tidak memfermentasi laktosa tetapi dapat memfermentasi karbohidrat lain, dan dapat menginvasi eritrosit kolon (Sears *et al.*, 2011). *Shigella sonnei* berbentuk batang, termasuk bakteri nonmotil, mendiami sistem saluran intestinal manusia dan binatang menyusui, sehingga infeksiya terbatas pada sistem gantroitestinal (Jawetz *et al.*, 2005).

Penyakit diare dan disentri yang disebabkan oleh *Shigella sp.* penularannya dapat melalui tangan dan fomit (rute fekal-oral), melalui air, atau melalui makanan (Gillespie & Bamford, 2009). Beberapa penelitian melaporkan bahwa 31% kasus *Shigellosis* di semua kelompok umur disebabkan oleh *Shigella sonnei* (Rajbar *et al.*, 2008). Infeksi yang disebabkan oleh *Shigella sp.* dapat diobati dengan siprofloksasin, ampicilin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Antibiotik tersebut dapat menghambat isolat *Shigella sp.*, menekan invasi disentri akut dan memperpendek jangka waktu gejala (Jawetz *et al.*, 2005).

4. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa yang memiliki struktur kimia tertentu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) ataupun membunuh bakteri (bakterisidal) (Spicer, 2008). Mekanisme antibakteri dalam menghambat atau membunuh bakteri adalah:

- a. Penghambatan sintesis dinding sel, dengan cara menghambat pembentukan peptidoglikan sehingga menimbulkan lisis pada sel. Contohnya sefalosporin, penisilin, dan β -laktam.
- b. Merusak membran sel sehingga makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian. Contohnya polimiksin B dan daptomisin.
- c. Penghambatan sintesis protein pada ribosom bakteri. Contohnya aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, makrolida.
- d. Penghambatan sistesis asam nukleat dengan penghambatan proses transkripsi dan replikasi. Contohnya rifampisin & kuinolon.
- e. Mengganggu jalur metabolisme bakteri. Contohnya sulfonamid dan trimetoprim (Nester *et al.*, 2012).

5. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengukur kemampuan suatu agen antibakteri secara *in vitro* sehingga dapat menentukan potensi antibakteri dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kepekaan mikroorganisme penyebabnya terhadap obat yang digunakan untuk pengobatan (Jawetz *et al.*, 2005).

Uji aktivitas antibakteri dibedakan menjadi dua, yaitu:

a. Metode Difusi

Cakram kertas yang berisi sejumlah antibakteri tertentu, diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri uji. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur untuk mengukur kekuatan penghambatan antibakteri terhadap bakteri uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisika dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat (Jawetz *et al.*, 2005).

Pembacaan hasil pada metode Kirby-Bauer dan modifikasinya adalah :

- 1) *Radical zone* yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.
- 2) *Irradical zone* yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan (Lorian, 1980 *cit* Maftazani, 2011).

b. Metode Dilusi

Antibakteri dibuat seri kadar konsentrasi yang menurun secara bertahap menggunakan media padat atau media cair. Selanjutnya media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Kemudian ditentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) antibakteri tersebut (Jawetz *et al.*, 2005).

6. Bioautografi

Bioautografi adalah metode skrining mikrobiologi yang digunakan untuk mendeteksi aktivitas biologi, antibakteri, antijamur, antiprotozoa, dan antitumor dari zat yang diuji (Croma & Grzelak, 2010). Metode bioautografi dibedakan menjadi tiga pada KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yaitu bioautografi kontak,

bioautografi imersi atau bioautografi *agar overlay*, dan bioautografi langsung (Patil *et al.*, 2013).

Bioautografi diawali dengan KLT. Selanjutnya lempeng KLT atau kertas kromatogram diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi mikroba uji dan diinkubasi. Kemudian zona hambat yang terbentuk dibandingkan dengan Rf standar acuan (Nostro *et al.*, 2000).

E. Landasan Teori

Menurut Riffel *et al.* (2002) naftokuinon didistribusikan secara luas pada tanaman, jamur, dan beberapa hewan. Lawson yang terkandung dalam tanaman pacar kuku adalah salah satu naftokuinon alami yang memiliki efek antibakteri pada bakteri aerobik maupun anaerobik. Skrining fitokimia terhadap daun pacar kuku yang dilakukan Rajwar & Katri (2012) menemukan kandungan senyawa 2-hidroksi-1, 4 naftokuinon (lawson), 1,4-dihidroksinaftalen, 1,4-naftokuinon, 1,2-dihidroksiglukosiloksinaftalen dan 2-hidroksi-1,4-diglukosiloksinaftalen, flavonoid (luteolin dan apigenin), kumarin (eskuletin, fraksetin, dan skopoletin), dan steroid (sitosterol). Raja *et al.* (2013) menemukan kandungan senyawa glikosida, fitosterol, steroid, saponin, tanin, dan flavonoid dalam ekstrak metanol 50% daun pacar kuku kering.

Penelitian yang dilakukan Karpe *et al.* (2011) menunjukkan bahwa fraksi naftokuinon (lawson) yang diisolasi dari daun pacar kuku memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* pada kadar 500 µg/mL dengan 100 µL/sumuran menunjukkan diameter zona hambat 16 mm (bakterisidal) dan 27 mm (bakteriostatik). Ekstrak metanol daun pacar kuku mengandung senyawa flavonoid $25,05 \pm 0,18$ mg/gram yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Proteus mirabilis* yang menunjukkan diameter zona hambat 17 mm–24 mm pada konsentrasi 1000 µg/mL dengan 200 µL/disk (Arun *et al.*, 2010).

Hasi uji ekstrak alkohol 70% daun pacar kuku dengan metode dilusi terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus β-hemolytic* dengan KHM

(Kadar Hambat Minimum) 0,125-0,150 $\mu\text{g/mL}$ dan diameter zona hambat $30 \pm 7,9$ mm dari 10 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak, sedangkan terhadap *Staphylococcus koagulasi-negatif* menunjukkan KHM (Kadar Hambat Minimum) 0,125-175 $\mu\text{g/mL}$ dan diameter zona hambat $28 \pm 8,2$ mm dari 10 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak (Al-Rubiay *et al.*, 2008). Ekstrak air daun pacar kuku menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 70 mg/mL menunjukkan diameter zona hambat 21 mm dengan 500 μL /sumuran (Merdaw, 2009). Peneliti lain, Saadabi (2007) membuktikan bahwa ekstrak air daun pacar kuku dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan volume 10 μL /disk pada konsentrasi 80 mg/mL memiliki diameter zona hambat 18 mm.

F. Hipotesis

Berdasarkan uraian landasan teori tersebut, hipotesis penelitian ini sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol daun pacar kuku memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*.
2. Senyawa dalam ekstrak etanol daun pacar kuku yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei* adalah naftokuinon dan flavonoid.